UNIVERSITÉ DE PARIS. — FACULTÉ DES SCIENCES

Année 1931-1932

N° d'Ordre 260
Série A
N° de Série 236

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LA NUTRITION AZOTÉE DU BACILLUS FŒCALIS ALCALIGENES

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du

TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Paul MOLLIEX
Expert-chimiste près les Tribunaux

Présentée et soutenue le 28 Mai 1932 devant la Commission d'Examen

MM. PORTIER . . . . . *Président*
GUILLIERMOND . . . } *Examinateurs*
MOUTON . . . . . }

PARIS
LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS
91, Boulevard St-Germain, 91

1932

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547506_0081

UNIVERSITÉ DE PARIS. — FACULTÉ DES SCIENCES

Année 1931-1932

N° d'Ordre 260
Série A
N° de Série 236

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR LA NUTRITION AZOTÉE DU BACILLUS FŒCALIS ALCALIGENES

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour l'obtention du

TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Paul MOLLIEX
Expert-chimiste près les Tribunaux

Présentée et soutenue le Mai 1932 devant la Commission d'Examen

MM. PORTIER . . . . . *Président*
GUILLIERMOND . . . } *Examinateurs*
MOUTON . . . . . }

PARIS
LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS
91, Boulevard St-Germain, 91

1932

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen ..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyen honoraire... M. MOLLIARD.

Profes honoraires.
- H. LE CHATELIER.
- H. LEBESGUE.
- A. FERNBACH.
- A. LEDUC.
- Émile PICARD.
- Rémy PERRIER.

Professeurs .....

E. GOURSAT	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
P. JANET	Électrotechnique générale.
F. WALLERANT ...	Minéralogie.
P. PAINLEVÉ	Mécanique analytique et mécanique céleste.
M. CAULLERY	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
Émile BOREL	Calcul des probabilités et Physique mathém.
H. ABRAHAM	Physique.
M. MOLLIARD	Physiologie végétale.
E. CARTAN	Géométrie supérieure.
Gabriel BERTRAND .	Chimie biologique.
Jean PERRIN	Chimie physique.
L. LAPICQUE	Physiologie générale.
Mme P. CURIE	Physique générale et radioactivité.
G. URBAIN	Chimie générale.
L. MARCHIS	Aviation.
E. VESSIOT	Théorie des fonctions et théorie des transformations.
A. COTTON	Physique générale
J. DRACH	Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY	Physique.
R. LESPIEAU	Théories chimiques.
P. PORTIER	Physiologie comparée.
Charles PÉREZ	Zoologie.
É. BLAISE	Chimie organique.
P.-A. DANGEARD ..	Botanique.
Léon BERTRAND ...	Géologie structurale et géologie appliquée
E. RABAUD	Biologie expérimentale.
G. JULIA	Calcul différentiel et calcul intégral.
Paul MONTEL	Mécanique rationnelle.
V. AUGER	Chimie appliquée.
P. WINTREBERT ...	Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ	Biologie maritime.
Eugène BLOCH	Physique théorique et physique céleste.
N.....	Étude des combustibles.
L. LUTAUD	Géographie physique et géologie dynamique.
Henri VILLAT	Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB	Géologie.
P. PASCAL	Chimie minérale.
Léon BRILLOUIN ..	Théories physiques.
E. ESCLANGON	Astronomie.
H. BÉNARD	Mécanique expérimentale des fluides.
MAUGUIN	Minéralogie.
L. BLARINGHEM ...	Botanique.
A. GUILLIERMOND .	Botanique (P. C. N.).
A. DENJOY	Mathématiques générales.
A. DUFOUR	Physique (P. C. N.).
H. BÉGHIN	Mécanique physique et expérimentale.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

E. PÉCHARD	Chimie (Enseigt P. C. N.)
A. GUILLET.....	Physique.
M. GUICHARD	Chimie minérale.
A. MICHEL-LÉVY ..	Pétrographie.
A. DEREIMS.....	Géologie.
H. MOUTON	Chimie physique.
L. DUNOYER	Optique appliquée.
M. JAVILLIER	Chimie biologique.
ROBERT-LÉVY	Zoologie.
A. DEBIERNE.....	Radioactivité.
E. DARMOIS	Physique.
G. BRUHAT.....	Physique.
F. PICARD	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
L. JOLEAUD	Paléontologie.
M. FRÉCHET	Calcul des Probabilités et Physiques mathématiques.

Mme RAMART-LUCAS	Chimie organique.
FOCH	Mécanique expérimentale des fluides.
PAUTHENIER	Physique (P. C. N.).
VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
De BROGLIE	Théories physiques.
LABROUSTE.....	Physique du Globe.
FREUNDLER	Chimie (P. C. N.).
PRENANT	Zoologie.
P. JOB	Chimie générale.
CHRÉTIEN	Optique appliquée.
BOHN.....	Zoologie (P. C. N.).
BOURGUÉL	Chimie (P. C. N.).
COMBES.....	Sciences naturelles (P. C. N.).
GARNIER.....	Mécanique rationnelle.

Secrétaire..... A. PACAUD
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.

A LA MÉMOIRE

DE MONSIEUR LE PROFESSEUR MARC BRIDEL

Professeur au Muséum d'Histoire Naturelle
Pharmacien en Chef de l'Hôpital Lariboisière
Chevalier de la Légion d'Honneur

A LA MÉMOIRE DE MA PETITE FILLE

LOUISE MOLLIEX

A Monsieur le Docteur Paul PORTIER

Membre de l'Académie de Médecine
Professeur à la Faculté des Sciences
Professeur à l'Institut Océanographique
Chevalier de la Légion d'Honneur

Hommage de respect et de reconnaissance.

INTRODUCTION

Le *Bacillus fœcalis alcaligenes* fut isolé en 1889 ; puis, décrit en 1896 par Petruschky. Peu à peu, il a acquis une place en pathogénie ; et, l'on a constaté qu'il était l'agent propre de plusieurs affections intestinales à formes paratyphoïdes.

Considéré du point de vue biochimique, *le Bacillus fœcalis alcaligenes* est un germe ni proréolytique, ni saccharolytique ; il est peptolytique.

Nous nous sommes attaché, dans le présent travail, à déterminer ses conditions d'existence, en présence des composés azotés, ainsi que les transformations qu'il leur fait subir. Malheureusement, il s'est toujours refusé à cultiver sur des milieux simplifiés ; et, nous a empêché ainsi d'étudier son action sur les amino-acides et les sels ammoniacaux en milieux chimiquement définis. Il nous a obligé ainsi à limiter nos recherches dans des bornes assez étroites.

Dans la première partie de cette étude, nous passons successivement en revue : l'Historique du *Bacillus fœcalis alcaligenes*, tous les cas où, à notre connaissance, les auteurs l'ont signalé, comme l'agent causal d'une affection, ses propriétés biologiques et

biochimiques, enfin les méthodes de recherche et d'identification de ce germe.

Dans la deuxième partie, après avoir décrit sommairement les procédés analytiques que nous avons employés, nous abordons l'étude de la nutrition azotée du *Bacillus fœcalis alcaligenes.*

Nous avons suivi sa culture sur des solutions de peptones de diverses provenances et à différents stades de dégradation, sur des autolysats de levure à différents degrés d'autolyse, sur des bouillons de viande et des décoctions végétales ; c'est-à-dire sur les milieux liquides les plus couramment usités dans la pratique bactériologique. Nous avons dosé l'azote, sous ses différentes formes, dans ces milieux, avant puis à intervalles réguliers, après ensemencement, afin de suivre l'évolution de cet élément au cours de la culture ; et, c'est là l'objet principal de notre travail.

Quelques objections se sont présentées à notre esprit ; et, ont nécessité des expériences préliminaires, qu'il nous a paru utile de rapporter, en ce qu'elles sont instructives, et que nous justifierons à mesure de leurs succession. Les protocoles d'expériences, qui ont nécessairement varié, sont décrits, en tête de chacune d'elles, et les observations que ces expériences nous ont suggéré, à la suite.

Enfin, nous donnons les conclusions que nous avons cru pouvoir tirer de cette longue et minutieuse étude qui, bien que nous ayant coûté plusieurs milliers de dosages, n'est encore qu'une ébauche bien impar-

faite du sujet, que nous nous étions proposé de traiter.

Dans un index bibliographique, nous indiquons les auteurs qui ont traité du *Bacillus fœcalis alcaligenes* et les travaux auxquels nous nous sommes référé pour ce travail.

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Physique Végétale du Muséum National d'Histoire Naturelle, où M. le Professeur Marc Bridel nous a accordé une généreuse hospitalité.

Nous aurions été particulièrement heureux d'exprimer, à cette occasion, notre sincère attachement et notre vive gratitude à ce Maître distingué, pour les conseils éclairés et la grande bienveillance qu'il n'a cessé de nous témoigner au cours des heures heureuses que nous avons passées dans son laboratoire.

Malheureusement, le Destin impitoyable vient d'arracher ce Savant à l'affection de ses élèves, leur laissant, avec une profonde tristesse, un haut exemple de probité scientifique et d'ardeur au travail.

Notre reconnaissance va également aux maîtres qui ont accepté d'être les juges de ce travail.

A M. le Professeur Portier qui a bien voulu accepter la présidence de cette thèse, et duquel nous avons pu apprécier la grande bonté.

A nos juges : M. le Professeur Guillermond et M. le Professeur Mouton, que nous remercions de leur bienveillant accueil.

Il nous est particulièrement agréable de dire toute

notre gratitude à M. Tombeck, Secrétaire Honoraire de la Faculté des Sciences, pour la sollicitude qu'il n'a cessé de nous témoigner à l'occasion de ce travail.

Nous remercions aussi M. Blaut, Directeur des Établissements Leune et M. Gerbault, Directeur technique des Établissement Pyrex, pour l'amabilité avec laquelle ils ont facilité la partie matérielle de nos travaux.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Le *Bacillus fœcalis alcaligences* fut isolé d'une bière gâtée, par Petruschky, en 1889 ; il le décrivit en 1896 (23).

Il a été étudié, à cette époque, à l'Institut des maladies infectieuses de Berlin, par Pfuhl, Vagedes, Neufeld et Vages (23).

En 1899, Em. Fischer (6) s'étonne que ce germe n'ait pas été décrit plus tôt, dans plusieurs traités, il s'étonne également, et nous ne saurions trop partager son avis, de l'insistence qu'apportent les auteurs, à différencier le *Bacterium coli* du Bacille d'Eberth, qui ne se ressemblent nullement ; alors, qu'ils n'attachent que peu ou pas d'importance, au *Bacillus fœcalis alcaligenes* qui s'apparente beaucoup, au bacille typhique sans cependant s'identifier avec lui.

Il résulte d'une étude minutieuse de Klimenko (11),

que les différences essentielles qui existent entre le bacille typhique et le *Bacillus alcaligenes* se réduisent pour le premier, à une production d'acide dans le milieu de Petruschky et dans le milieu à la mannite, tandis que le second confère une réaction alcaline à ces milieux. Nous ajouterons que le premier est producteur d'hydrogène sulfuré alors que, le *Bacillus alcaligenes* n'en dégage jamais. Klimenko (12) a cependant décrit un bacille qui présente tous les caractères de l'*alcaligenes*, et qui est producteur d'hydrogène sulfuré,

Altschuler (1), puis Doebert(5) ont tenté de démontrer l'identité du bacille d'Eberth et du *Bacillus alcaligenes.* Berghaus (3) a démontré l'impureté des cultures, dont s'était servi Altschuler. Gaehtgens (7) a démontré, d'autre part, en se basant sur les caractères biologiques, la dualité des deux espèces.

Les auteurs, qui ont étudié le *Bacillus fœcalis alcaligenes*, le considérent, tantôt comme un germe de sortie des affections intestinales, tantôt comme un germe ayant une action pathogène propre.

Petruscky (23) dit l'avoir isolé de l'intestin d'un typhique.

Herman V. Howell (8) l'a identifié treize fois chez les malades, atteints, soit de dysenterie bacillaire, soit de typhus ou paratyphus ; il l'a même trouvé chez des individus sains.

Em. Fischer (6) cite plusieurs cas d'infections simili-typhiques, dues au *Bacillus alcaligenes.*

Une enquête de Hirst (9) a montré, que, chez les

convalescents de fièvre typhoïde et de dysenterie, le germe était présent dans la moitié des cas.

Lafforgue (13) le signale dans une affection typhique.

Straub et Kraus (27) rapportent deux cas de troubles gastro-intestinaux avec symptômes typhiques, ou l'agent causal, isolé du sang des malades, offrait tous les caractères du *Bacillus alcaligenes.*

Rochaix et Marotte (24) ont également isolé ce germe, du sang de malades présentant des phénomènes gastro-intestinaux.

Scherrman (25) a observé, en Egypte, une petite épidémie due au *Bacillus fœcalis alcaligenes* ; il a également constaté que des formes, considérées comme typhoïdes anormales, devaient être attribuées à ce germe.

Hirst (9) l'a isolé douze fois, du sang de malades, à Alexandrie.

Emile Weiss (29) a isolé, à trois reprises différentes du sang de malades, atteints d'appendicite gangreneuse, un microorganisme qu'il nomme *alcaligenes appendicalis* et qu'ils rattache au groupe des *alcaligenes.*

Stanichewesky, Egges et Mikolenko (26) signalent la présence du *Bacillus fœcalis alcaligenes* dans le sang de 44 malades, dont la plupart étaient atteints de typhoïde, lors d'une épidémie à Dujepropetrowsk, en 1927-1928.

Slobozinao et Nasta (28), ont trouvé le *Bacillus*

fœcalis alcaligenes dans l'exudat péritonéal prélevé pendant la vie, chez deux jumeaux.

De Magalhaes (15) l'a obtenu, en culture pure, en ensemençant le sang d'un malade, dans la bile ; il était agglutiné par le sérum de ce malade.

Lesbre et Verdeau (14), dans une étude portant sur six souches, ont vu que le *Bacillus fœcalis alcaligenes* poussait sur les milieux, vaccinés par le Bacille d'Eberth, les paratyphiques A et B, le bacille de Shiga, le vibrion de Koch et le *Bacterium coli* ; tandis que la réciproque n'est pas vraie.

Herman V. Howell (8) a constaté que ce germe ne se laissait agglutiner que par le sérum préparé avec lui-même ; et non, par les sérums typhique, paratyphiques A et B et Gaertner.

Ces constatations tendent bien à confirmer son rôle de germe de sortie des affections intestinales et son individualité propre ; outre ce rôle, il paraît également avoir une action pathogène propre et être l'agent déterminant d'affections gastro-intestinales à forme typhique.

Cependant, Gaehtgens (7) a démontré, qu'en culture mixte avec le bacille d'Eberth, seul ce dernier germe persistait après quelques semaines ; ce qui ferait penser à une concurrence vitale entre ces deux espèces.

CHAPITRE II

MORPHOLOGIE

Le *Bacillus Fœcalis alcaligenes* est un bâtonnet court à bouts arrondis, souvent disposé en diplobacilles, affectant quelquefois des formes en navette. Dans les vieilles cultures en bouillon, nous avons constaté la forme en longs filaments de plusieurs articles.

Il est mobile : cette mobilité est parfois très vive ; la forme filamenteuse des vieilles cultures est également mobile ; mais les mouvements sont plus lents et plus ondulants.

Petruschky (23), dans la description qu'il fait de ce germe, lui assigne des cils péritriches, contrairement à Klimenko (11), Straub et Krauss (27), Hirst (9) et aux autres auteurs, qui ont décrit ce bacille et qui ont constaté la présence des cils aux extrémités, en moyenne trois à cinq.

Pour notre part, avec les diverses souches que nous avons eues en mains, nous avons toujours constaté la présence de cils péritriches.

Il ne forme pas de spores.

Le *Bacillus alcaligences* se colore aisément par les

couleurs basiques d'aniline ; il ne reste pas coloré par la méthode de Gram ; la coloration des cils s'obtient par la méthode de Nicolle et Morax (22).

ASPECT DES CULTURES

Ensemencé dans le bouillon ou dans l'eau peptonée, le *Bacillus fœcalis alcaligenes*, détermine à 37° en 24 heures, un trouble uniforme, présentant des ondes moirées par agitation ; il se forme, à la surface, quelquefois une collerette, plus généralement un voile excessivement fragile qui se détache et tombe au fond du récipient à la moindre secousse. Les débris de ces voiles, qui se reforment de plus en plus lentement, forment un dépôt qui ne tarde pas à être abondant.

Le lait se clarifie très lentement et n'est jamais coagulé.

Le lait tournesolé bleuit, par suite de l'alcalinisation croissante du milieu.

Sur et dans la gélatine, les colonies n'offrent rien de caractéristique ; ce milieu n'est jamais liquéfié.

Ensemencée en strie sur gélose, la culture se développe en 24 heures à 37°. Elle est blanche, crémeuse et va en s'épaississant les jours suivants. Au bout de quelques semaines, elle prend souvent une teinte brun rougeâtre, ou plutôt chamois.

Ce germe contrairement au bacille typhique, se développe abondamment sur pomme de terre ; et, la culture brunit en peu de temps.

CHAPITRE III

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

Le *Bacillus fœcalis alcaligenes* est strictement aérobie ; il se développe sur tous les milieux de culture usuels, à la température ordinaire, c'est-à-dire de + 10° à + 45° ; mais la température optima est de 37-39°.

Il est d'une très grande longévité ; des cultures sur gélose, que nous avions conservées à l'obscurité et à l'abri de la dessiccation, étaient encore vivantes au bout de deux ans. Comme le *Bacterium Coli* et le bacille d'Eberth, il se développe bien en présence d'acide phénique. Nos expériences personnelles nous ont fourni les chiffres suivants :

Bouillon de peptone phéniqué à	0,25 p. 1000	:	culture en 24 heures
—	0,50	:	— 48 —
—	1,00	:	— 72 —
—	1,50	:	ne cultive pas.

En culture sur gélose, additionnée de couleurs d'aniline, nous avons obtenu les résultats suivants :

Bleu de méthylène : culture sans réduction du colorant, colonies incolores.

Krystal violet : culture sans réduction, colonies fortement colorées.

Fuschine : milieu décoloré, colonies fortement colorées.

Le rouge neutre ne vire pas sous l'action du *Bacillus fœcalis alcaligenes.*

Il se montre très résistant à l'ammoniaque : nous avons constaté qu'une eau peptonnée additionnée de 70 milligrammes d'ammoniaque pour 100 cm^3 permet encore la culture du germe en 48 heures.

Il n'attaque pas les sucres : les milieux sucrés additionnés de teinture de tournesol ne fermentent pas ; ils restent bleus ; et, cette teinte s'accentue.

Il ne produit pas d'indol dans les cultures.

Il ne dégage pas d'hydrogène sulfuré.

Les cultures sur milieux liquides dégagent fréquemment une odeur infecte.

Il cultive sur les milieux additionnés de bile.

CHAPITRE IV

RECHERCHE ET DIAGNOSTIC

L'hémoculture et l'isolement, sur plaques de gélose lactosée-tournesolée, permettent de déceler la présence du *Bacillus fœcalis alcaligenes* dans le sang et dans les selles.

Pour la recherche dans les eaux, si l'on a affaire à des eaux très riches en germes, telles les eaux d'égout ou de rivière, on peut tenter l'isolement immédiat comme ci-dessus. Pour les eaux peu peuplées, on les ensemence d'abord sur une eau peptonée-phéniquée et l'on emploie la culture de 24 heures ; dans ces différents cas, sauf pour le sang, la présence du *Bacillus proteus* vient parfois troubler la recherche en envahissant toute la surface du milieu.

Dans ce cas, l'on peut éliminer le *Proteus* en employant le procédé indiqué par P. Bergman (3*b*), cet auteur recommande de faire un premier ensemencement du produit à étudier dans du lait alcalinisé (0,1 cm³ de soude ou de potasse à 20-21 pour 100, pour 10 cm³ de lait tournesolé). Les cultures faites à partir de ce milieu, après un séjour de 24 heures à 3 jours, son exemptes de *Proteus*.

Nous avons décrit, plus haut, les caractères du *Bacillus fœcalis alcaligenes* ; nous les exposerons, à nouveau, en regard de ceux du Bacille typhique, qui lui aussi donne des colonies bleues sur gélose lactosée-tourneselée.

	B. Foecalis	B. Typique
Gélose lactosée-tournesolée	bleuit	bleuit
Gélose glucosée-tournesolée	bleuit	rougit
Gélose au s/acétate de plomb..	reste incolore	noircit
Culture sur pomme de terre ...	Culture épaisse	glacis mince

Enfin, rappelons qu'il ne fait pas fermenter les sucres, qu'il ne liquéfie pas la gélatine et qu'il ne produit pas de pigment.

DEUXIÈME PARTIE

LA NUTRITION AZOTÉE
DU BACILLUS FŒCALIS ALCALIGENES

Dans cette partie de notre travail, nous avons recherché les modifications que fait subir, aux matières azotées, le *Bacillus fœcalis alcaligenes* ; et les transformations que subissent ces matières, au cours de la nutrition de ce germe.

Nature du germe employé : Nous avions à notre disposition trois souches de *Bacillus fœcalis alcaligenes*, répondant à la description que nous en avons donné plus haut. Nous avons adopté la souche II, isolée par nous d'une eau des égouts de la Ville de Paris. Cette souche, après de nombreux passages sur gélose peptonée et sur gélose peptonée-glycérinée, s'est montrée immuable dans ses caractères et son activité. Avant chaque mise en train, le germe était repiqué sur gélose ; et, c'est une trace de cette culture, âgée de 48 heures, qui servait à amorcer l'expérience.

Nos recherches ont porté sur les milieux liquides

employés couramment en bactériologie ; ces milieux étaient ajustés au *p*H 7 à 7,5. Toutefois, le germe s'accommode, assez facilement, d'un *p*H inférieur à 7.

La réaction de ces milieux change constamment au cours de la culture, en tendant vers l'alcalinité.

Le *p*H a été déterminé par la méthode colorimétrique, en utilisant les indicateurs et les gammes étalon de Clark et Lubs.

Avant d'entrer dans le détail des expériences et la discussion de leurs résultats, nous exposons les méthodes auxquelles nous avons eu recours pour obtenir ces résultats.

Tous ces résultats sont exprimés en azote élémentaire (N) et rapportés à 100 cm³ du liquide mis en expérience.

Dans les tableaux nous avons indiqué :

— l'azote total,

— le pourcentage d'azote total restant (*), après élimination des corps microbiens.

— l'azote titrable au formol,

— l'azote aminé,

— l'azote ammoniacal,

— le rapport de l'azote aminé à l'azote total,

— le rapport de l'azote ammoniacal à l'azote total.

De cette façon, nous avons pensé que toutes nos

(*) Par cette expression « azote » restant, nous entendons l'azote sous toutes ses formes et non l'azote restant après précipitation des matières protidiques, appelé aussi azote résiduel.

expériences seraient comparables entre elles et que la marche des phénomènes ressortirait mieux.

Avant d'aborder l'étude de la transformation des milieux azotés par le *Bacillus fœcalis alcaligenes*, nous avons voulu voir si les milieux azotés, maintenus stériles, ne subissaient pas des transformations, soit spontanément, soit sous l'action de l'ammoniaque.

On trouvera les résultats de ces études préliminaires immédiatement après l'exposé des méthodes suivies.

CHAPITRE I

LES MÉTHODES

De même que nous avons estimé qu'il était nécessaire de décrire les protocoles d'expériences, nous avons pensé qu'il était utile d'indiquer, avec quelques détails, les méthodes de dosages que nous avons adoptées ainsi que les modifications que nous leur avons fait subir, pour les utiliser aux fins que nous poursuivions.

Etant donné le peu de matériel dont nous disposions, ce sont toutes des microméthodes ou plutôt des semi-microméthodes, les dosages ayant été effectués sur un cm^3 en général, quelquefois un demi-cm^3 du liquide en expérience

Clarification des cultures

Les liquides de culture mis en expérience étaient toujours parfaitement limpides immédiatement après l'ensemencement ; mais, il n'en était plus ainsi peu de temps après. Le milieu, d'abord trouble, laissait déposer un sédiment de plus en plus abondant,

jusqu'à devenir une boue épaisse après quelques semaines. Et, comme nous recherchions les modifications que le microbe avait fait subir au milieu primitif, il était de toute nécessité de lui restituer sa limpidité et d'écarter les corps microbiens ; pour cela, nous avons utilisé deux procédés qui, comparés entre eux, nous ont donné des résultats identiques. Toutefois, chaque expérience a toujours été menée avec l'un ou l'autre de ces procédés.

A. — La centrifugation

Le matras, renfermant la culture, après avoir été ramené à son poids primitif avec de l'eau stérile, pour compenser l'évaporation, était agité pour homogénéiser le contenu. Après flambage de la bourre et du col du matras, 10 cm³ étaient versés dans un tube à centrifuger et le tube placé dans une centrifugeuse électrique, tournant à 8.000 tours à la minute, jusqu'à limpidité parfaite, soit 10 à 20 minutes. Le liquide clair décanté servait aux dosages.

B. — La filtration

Ce moyen, moins long que le précédent, nous a dispensé de l'emploi d'une centrifugeuse à très grande vitesse. On prélevait, avec les précautions ci-dessus, 15 cm³ de culture destinés à être filtrés

sur une petite bougie Chamberland, en communication avec une trompe à vide.

Dans des expériences préliminaires, nous avons constaté une légère rétention de l'azote par les bougies filtrantes, 1 à 1,5 %, aussi tous les liquides étaient filtrés sur bougie avant la mise en expérience.

Mais ici deux écueils se présentaient : d'une part, l'action du vide risquait d'entraîner les gaz inclus dans le liquide, l'ammoniac en particulier, et d'autre part l'on sait que les parois poreuses fixent certaines substances albuminoïdes en solution acide ou alcaline. Nous avons obvié à ce double inconvénient par une seule et même opération : la neutralisation, qui, d'une part, fixait l'ammoniac à l'état de sulfate et qui, d'autre part, empêchait l'adsorption des substances albuminoïdes par la paroi poreuse. Cette neutralisation était effectuée avec de l'acide sulfurique au dixième, à la touche, avec du papier tournesol sensible.

Nous nous sommes assuré par l'expérience suivante que cette addition d'acide sulfurique ne favorisait pas la rétention de l'azote par la paroi filtrante.

Une solution peptonée *p*H 7 est filtrée sur bougie azote total, rapporté à 100 cm³ 232 mg. 5. La même solution additionnée de II gouttes d'acide sulfurique au dixième pour 15 cm³ est filtrée sur la même bougie azote total rapporté à 100 cm³ 232 mg. 5.

L'erreur causée par cette dilution était minime, toujours inférieure à 1 % souvent à 1 ‰. Aussi n'en avons nous pas tenu compte.

Dosage de l'azote total

Sous cette désignation, nous n'avons pas seulement en vue l'azote non protéique mais l'azote sous toutes ses formes, soluble dans le milieu de culture

Un cm³ du liquide de culture (*), clarifié par l'une des méthodes ci-dessus, était placé dans une fiole d'attaque en Pyrex ; puis, on y ajoutait successivement 3 cm³ d'acide sulfurique, 0 gr. 2 de sulfate de potassium et 0 gr. 1 de sulfate de cuivre puis une perle de verre, pour régulariser l'ébullition. On portait sur un petit brûleur ; et, on laissait bouillir doucement, jusqu'à limpidité du liquide. A ce moment, on ajoutait II gouttes d'alcool à 95°, et, on faisait à nouveau bouillir jusqu'à décoloration complète. A partir de ce moment, on laissait encore l'attaque se poursuivre pendant 30 minutes au moins. Après refroidissement, le liquide et les eaux de lavage étaient transvasées dans l'appareil de Pregl modifié par Méllière et de Saint-Rat (16), distillés en présence d'un léger excès de soude. L'ammoniac, entraîné par un courant de vapeur, était reçu dans quelques cm³ d'eau renfermant III gouttes d'alizarine sulfonate de sodium sensibilisée selon les indications de Mestrézat (17) et neutralisé au fur et à mesure avec de l'acide sulfurique normal au cinquante-sixième, dont un centimètre cube correspond à 0 mg. 25 d'azote.

(*) La même pipette nous à servi pour toutes nos expériences.

Une série d'essais à blanc, avec les réactifs employés, nous avait fixé sur la correction à faire subir aux résultats trouvés, généralement 0 cm³ 10 à retrancher pour les quantités indiquées ci-dessus.

Le dosage de l'azote, par la méthode de Kjeldahl, donne en certaines circonstances des résultats inférieurs à ceux obtenus par la méthode de Duma

Il y a donc là une erreur, par défaut, qui a été étudiée par Mestrezat et Janet (18, 19, 20). Ces auteurs ont montré que différents groupements azotés n'étaient qu'incomplètement ou même nullement dosés par la méthode de Kjeldahl. Cependant, dans le cas qui nous occupe, ces groupements pratiquement inexistants, ce qui fait qu'au point de vue comparatif nos expériences conservent toute leur valeur.

Dosage de l'azote titrable au formol

L'azote titrable au formol comprend : l'azote aminé, l'azote des sels ammoniacaux et celui de l'ammoniac libre. Dans le cas qui nous occupe, il n'y a plus d'ammoniac libre puisqu'il a été salifié lors de la neutralisation du milieu, avant filtration. Nous avons employé la méthode classique décrite par Sörensen (25b), en veillant à ce que le volume des liquides soit bien le même dans le témoin et dans les essais, afin que les teintes soient comparables entre elles. Pour ce titrage, nous avons employé la soude normale au cinquante-sixième, dont un cm³ correspond à 0 mg. 25 d'azote.

Dosage de l'azote ammoniacal

Nous avons pratiqué ce dosage fort simplement, en déplaçant l'ammoniaque par un courant de vapeur d'eau, dans l'appareil de Pregl, en présence d'un faible excès de carbonate de lithium ; et , en titrant dans le distillat en présence d'alizarine sulfonate de sodium.

Leclère (13*b*) qui a préconisé cette méthode de dosage a constaté que le carbonate de lithium n'exerce à chaud qu'une action hydrolysante très faible sur l'urée, négligeable sur les amino-acide et intense sur les sels ammoniacaux qui perdent rapidement et totalement leur base.

Signalons en passant, que nous avons trouvé de l'azote, sous cette forme, dans tous les milieux neufs ; et, affectant une importance croissante dans l'ordre suivant : eau de levure, décoctions végétales, peptones pepsiques, peptones pancréatiques.

Azote aminé

Cette forme d'azote a été calculée par différence entre des deux formes précédentes. Nous avons pratiqué à plusieurs reprises le contrôle par la méthode de Bernier et Ronchèse ; (24*b*, 24 *c*) et, nous avons, chaque fois, constaté une concordance satisfaisante.

Rappelons que cette méthode consiste à déplacer par la chaux l'amoniaque libre ou combiné dans un milieu renfermant ce corps et des acides aminés, et à titrer, par le procéde au formol, l'azote de ces acides aminés.

Disons enfin, pour terminer, que tous nos tirages ont été faits en double et quelquefois en triple, lorsqu'un écart nous laissait supposer une faute opératoire.

CHAPITRE II

ÉTUDE DE LA DÉGRADATION D'UN LIQUIDE AZOTÉ MAINTENU STÉRILE

Une première question sollicitait notre attention. Il s'agissait de savoir, si en dehors de toute action microbienne, une solution peptonée, stérile et maintenue telle, placée à l'étuve à 37° et y séjournant plusieurs semaines, subissait des changements quant à sa composition azotée ; nous avons tenté de la résoudre par les expériences suivantes :

I

SOLUTION DE PEPTONE PEPSIQUE

Une solution de peptone pepsique (2% environ, *p*H 7,1) est répartie par 10 cm³ dans les tubes à essais étirés et obturés d'une bourre de coton. Après stérilisation à + 110°, les tubes sont scellés à la flamme et placés à l'étuve à 37°.

Au départ, puis de sept en sept jours, un tube est sacrifié. On titre l'azote total, l'azote titrable au formol, l'azote ammoniacal ; et, l'on déduit, par calcul, l'azote aminé.

Durée de l'expérience : 70 jours (dix semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide.

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70
Azote total	175,0	174,7	174,4	175,6	176,9	176,3	175,6	175,6	175,6	175,9	176,1
Azote total restant %	100,0	99,8	99,7	100,3	101,0	100,7	100,3	100,3	100,3	100,5	100,6
Azote titrable au formol	19,4	20,7	22,0	23,3	20,7	21,1	24,5	24,5	24,5	24,5	24,5
Azote aminé	15,6	16,9	18,2	19,5	16,2	16,3	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
Azote ammoniacal	3,8	3,8	3,8	3,8	4,5	4,8	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Rapport { Azote aminé / Azote total }	8,9	9,7	10,4	11,9	9,1	9,3	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	2,1	2,1	2,1	2,1	2,5	2,7	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8

Des chiffres qui précédent, nous pouvons déduire que nous avons bien affaire à une peptone pepsique, le rapport de l'azote aminé à l'azote total étant plus petit que 20.

Pour cette distinction des peptones, nous nous sommes reportés au travail de MM. Javillier et Guérithault, (10), qui ont constaté que pour les peptones pepsiques le rapport $\frac{\text{azote aminé}}{\text{azote total}}$ était inférieur à 20, alors qu'il est supérieur à ce chiffre pour les peptones pancréatiques (*).

Si nous examinons les résultats de cette expérience, nous voyons que le taux de l'azote total s'est maintenu le même, l'écart maximum étant de 0 mg. 7 %, ce qui est dans l'ordre des erreurs de dosage. Cette constance n'a rien de surprenant puisque le milieu était stérile et le récipient scellé ; il ne pouvait donc y avoir ni consommation, ni déperdition d'azote. L'azote titrable au formol a suivi une courbe presque régulièrement ascendante et s'est accru de 5 mg. 1 qui se sont répartis ainsi : 1 mg. 2 sur l'azote ammoniacal et 3 mg. 9 sur l'azote aminé.

De cette première expérience, nous pouvons donc conclure qu'il y a eu hydrolyse de la peptone en solution aqueuse, en dehors de toute action microbienne, et que cette hydrolyse atteint un terme où elle reste fixe ; ce terme est ici le 42e jour.

(*) Les auteurs comptaient, en fait, comme azote animé la totalité de l'azote titrable au formol.

II

SOLUTION DE PEPTONE PANCRÉATIQUE

En vue de cette seconde expérience, nous avons employé une solution de peptone pancréatique (2 % environ, *p*H 7,1) La solution (250 cm³) était contenue dans un matras ; et, après passage à l'autoclave, a été additionnée de 1 cm³ de toluène, pour en assurer la stérilité.

Au départ, puis tous les sept jours, après avoir compensé l'évaporation, un prélèvement était fait et les dosages d'azote effectués comme précédemment.

Durée de l'expérience : 35 jours (cinq semaines)

Résultats exprimés en millirrammes d'azote pour 100 cm³ de l,quide

Jours	0	7	14	21	28	35
Azote total	136,9	136,3	136,9	137,5	136,9	136,3
Azote total restant %	100,0	99,6	100,0	100,4	100,0	99,6
Azote titrable au formol	43,9	43,9	42,6	41,3	43,9	43,3
Azote aminé	40,7	40,2	38,9	37,6	40,7	39,8
Azote ammoniacal	3,2	3,7	3,7	3,7	3,2	3,5
Rapport { Azote aminé / Azote total }	29,7	29,5	28,4	27,3	29,7	29,2
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	2,3	2,7	2,7	2,6	2,4	2,5

Le rapport élevé de l'azote aminé à l'azote total nous confirme que nous avons employé une peptone pancréatique.

L'écart entre les chiffres de l'azote total est ici de 0 mg. 4 %. Nous pouvons donc considérer qu'il est insignifiant et que la teneur n'a pas varié au cours de l'expérience ; l'azote titrable au formol, lui non plus, n'a pas varié, de même que ses composants ; le milieu semble donc être resté stable.

Nous pouvons expliquer cette fixité en disant qu'ici nous avons affaire à une peptone pancréatique de rapport azote aminé à azote total élevé, et, qu'elle ne s'est pas hydrolysée seule, comme dans le cas précédent, parce qu'elle était arrivée à l'état limite de cette hydrolyse.

L'expérience a été arrêtée au 39° jour par un accident, le développement d'une moisissure dans le milieu, malgré les précautions prises lors des prélèvements.

III

SOLUTION DE PEPTONE DE CASÉINE

Pour cette expérience, nous avons employé une peptone résultant de l'hydrolyse sulfurique de la caséine (*).

La solution neutre et stérile a été additionnée de toluène et les prélèvements et analyses faits à intervales réguliers.

(*) Nous devons cette peptone à l'obligeance de Monsieur Peneau, Directeur des Etablissements Byla, nous sommes heureux de l'en remercier ici.

Durée de l'expérience : 70 jours (dix semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70
Azote total	230,0	230,0	»	231,2	»	230,0	»	230,0	»	231,2	230,0
Azote total restant %	100,0	100,0	»	99,4	»	100,0	»	100,0	»	99,4	100,0
Azote titrable au formol	177,0	177,0	»	177,0	»	178,2	»	175,9	»	177,0	177,0
Azote aminé	154,5	153,9	»	153,3	»	153,2	»	150,9	»	152,0	152,0
Azote ammoniacal	22,5	23,1	»	23,7	»	25,0	»	25,0	»	25,0	25,0
Rapport { Azote aminé / Azote total	67,1	66,9	»	66,3	»	66,6	»	65,6	»	65,7	66,0
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	9,8	10,4	»	10,3	»	10,8	»	10,8	»	10,8	10,8

Ici encore, nous avons affaire à un milieu de dégradation avancée dont la composition paraît être restée fixée, sauf peut être pour l'ammoniac, dont le chiffre s'est un peu élevé.

IV

EAU DE LEVURE

Dans cette expérience, comme dans la suivante, nous avons employé le liquide que l'on tire par décoction de la levure autolysée. Nous avons indiqué dans un précédent travail, le détail de cette préparation (21)

Le liquide neutre et stérile est additionné de toluène et les analyses faites comme précédemment.

Durée de l'expérience : 42 jours (six semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42
Azote total	250,0	251,2	250,0	250,0	251,2	251,2	250,0
Azote total restant %.	100,0	99,5	100,0	100,0	99,5	99,5	100,0
Azote titrable au formol	108,3	108,7	109,1	108,1	108,1	108,1	108,1
Azote aminé	97,7	98,1	98,5	97,5	97,5	97,5	97,5
Azote ammoniacal	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Rapport { Azote aminé / Azote total . }	39,0	39,0	39,4	39,0	38,9	38,9	39,0
Rapport { Azote ammoniacal ..... / Azote total.. }	4,2	4,0	4,2	4,2	4,0	4,0	4,2

La grande fixité, des chiffres de cet essai, dont les

écarts sont de l'ordre des erreurs d'expériences, nous confirme qu'il n'y a pas eu d'auto-dégradation. Ce résultat était à prévoir, si l'on considère l'état de digestion avancée du milieu.

Dans le même ordre d'idées, nous avons entrepris l'assai suivant, destiné à être comparé avec une expérience de culture.

V

EAU DE LEVURE

Cette expérience, calquée sur la précédente, a été faite avec un liquide de concentration azotée plus faible (Voir tableau p. 33).

Des expériences qui précèdent, nous pouvons conclure qu'en dehors de toute action microbienne seule la peptone pepsique subit une transformation spontanée. Les autres milieux envisagés sont restés fixes, vraisemblablement parce qu'ils ont déjà atteint un état d'hydrolyse plus avancé.

Durée de l'expérience : 63 jours (neuf semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63
Azote total	71,3	71,8	70,7	71,3	71,3	71,8	70,7	70,7	71,3	71,3
Azote total restant %	100,0	100,7	99,1	100,0	100,0	100,7	99,1	99,1	100,0	100,0
Azote titrable au formol	41,4	41,4	42,6	42,6	41,4	42,6	42,6	44,5	41,4	41,4
Azote aminé	37,1	37,6	38,8	38,8	37,6	38,3	38,8	39,2	37,6	37,6
Azote ammoniacal	4,3	3,8	3,8	3,8	3,8	4,3	3,8	4,3	3,8	3,8
Rapport { Azote aminé / Azote total	52,0	52,3	54,8	54,4	52,7	53,3	54,8	55,4	52,7	52,7
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	6,2	5,2	4,3	5,3	5,3	5,9	4,3	6,0	5,3	5,3

CHAPITRE III

ACTION DE L'AMMONIAQUE SUR UN LIQUIDE AZOTÉ MAINTENU STÉRILE

Une autre question sollicitait notre attention, celle de savoir, si en présence d'amoniaque, une solution de peptone subissait une transformation ; c'est cette question qui nous a amené à réaliser l'expérience suivante :

VI

SOLUTION DE PEPTONE EN PRÉSENCE D'AMMONIAQUE

Une solution, stérile, de peptone pepsique (2 % environ, *p*H.7,5) est additionnée d'une solution étendue d'ammoniaque, de façon à renfermer environ 100 milligrammes de NH^3 % cm^3, répartie dans des tubes à essais stériles scellés et placés à l'étuve à 37° ; au départ, puis de 7 en 7 jours, un tube est refroidi puis ouvert ; et on titre l'azote total, l'azote titrable eu foroml, l'azote ammoniacal ; on déduit l'azote aminé.

Durée de l'expérience : 70 jours (dix semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70
Azote total	256,0	256,2	256,9	256,9	256,9	»	254,4	»	256,6	»	256,6
Azote total restant %	100,0	100,0	100,3	100,3	100,3	»	99,4	»	99,8	»	100,2
Azote titrable au formol	109,0	117,5	118,8	118,8	116,3	»	115,0	»	114,9	»	114,9
Azote aminé	26,5	30,0	30,0	28,8	25,0	»	23,7	»	23,6	»	23,6
Azote ammoniacal	82,5	87,5	88,8	90,0	91,3	»	91,3	»	91,3	»	91,3
Rapport { azote aminé / azote total	10,3	11,6	11,7	11,2	9,7	»	9,3	»	9,2	»	9,2
Rapport { azote ammoniacal / azote total	32,2	34,1	34,5	35,0	35,5	»	35,8	»	35,7	»	35,9

La courbe représentant la teneur en azote total reste sensiblement restiligne, les légères variations sont dues aux erreurs d'expériences, qui sont ici de l'ordre de moins de 1 %. Il n'en pouvait être autrement puisque le milieu a été maintenu stérile et en tubes scellés, que par conséquent il n'y avait pas de raison pour qu'il ait eu y consommation ou entraînement d'azote.

L'azote ammoniacal, au début de l'expérience, correspond bien aux 95 milligrammes d'ammoniaque ajoutés au milieu, plus l'ammoniaque préexistante dans ce milieu (4 mg. 55). Il va en s'accroissant, et cet accroissement paraît se faire aux dépens de l'azote aminé, qui, lui, va en diminuant après avoir subi une légère croissance. La présence d'ammoniaque amorce une faible hydrolyse du complexe protidique, pour en détacher des acides aminés, qui sont eux-mêmes dégradés ensuite et subissent la transformation en azote ammoniacal.

En outre, comme dans une expérience précédente, la réaction n'est pas indéfinie ; et nous constatons qu'elle s'arrête à un taux limité qu'elle ne dépasse pas.

CHAPITRE IV

RECHERCHE DES DIASTASES MICROBIENNES

Un autre point nous a semblé intéressant à élucider, celui de savoir si le germe contenait une endo ou une exo disatase qui agissait comme hydrolysant sur la molécule protéïque. Cette question nous a amené à entreprendre les essais suivants.

VII

RECHERCHE DES ENDO-DIASTASES

Une eau de levure, riche en azote aminé (*p*H 7,5), est placée dans un matras, stérilisée et ensemencée avec le *Bacillus falcaligenes*, placée à l'étuve à 37°. L'analyse est faite au départ, puis après trois jours de culture sur un prélèvement qui est filtré ; après ce prélèvement, la culture est tuée, par addition de 1 % de toluène. D'autres prélèvements et analyses sont faits après 6, 9, 15, 25, 35 jours.

Les corps microbiens morts restent en contact avec le liquide ; chaque prélèvement est filtré sur bougie avant l'analyse. A chaque prélèvement, on s'assure, par ensemencement sur eau peptonée, de la mort de la culture.

Durée de l'expérience : 35 jours (cinq semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	3	6	9	15	25	35
Azote total	89,4	64,4	67,9	66,6	67,9	67,9	69,4
Azote total restant % .	100,0	72,0	75,9	74,5	75,9	75,9	77,6
Azote titrable au formol.	51,7	36,2	44,6	41,5	46,5	43,3	46,5
Azote aminé	47,9	21,2	30,8	27,1	32,7	28,9	32,7
Azote ammoniacal.....	3,8	15,0	13,8	14,4	13,8	14,4	13,8
Rapport { Azote aminé. / Azote total . }	53,7	32,9	41,8	40,7	45,5	42,6	47,1
Rapport { Azote ammoniacal.... / Azote total . }	4,2	23,3	19,2	21,5	19,2	21,2	19,6

A l'examen des chiffres de cette expérience, nous voyons que, du premier au troisième jour, l'azote total décroît, ce qui est normal puisque le germe pullule. A partir du 6e et jusqu'au 35e, la teneur s'élève, ce qui est aisément explicable par l'autolyse des corps microbiens morts, qui sont en contact avec le liquide.

La teneur en azote aminé, après avoir décru du premier au troisième jour, se relève et les chiffres trouvés n'évoquent pas la probabilité d'une action diastasique. Ce relèvement nous paraît dû à l'autolyse des corps microbiens et peut être à l'action de l'ammoniac sur la molécule protéique, action que nous avons constatée, pour des doses d'ammoniac, il est vrai beaucoup moins grandes, dans un essai précédent et en l'absence de toute culture.

Ces constations nous incitent à penser qu'il n'y a pas d'action hydrolysante par les corps microbiens tués.

VIII

De l'expérience qui précède, nous pouvons rapprocher la suivante, pour laquelle nous avons utilisé une solution de peptone pancréatique (*p*H. 7,5) avec les mêmes précautions que ci-dessus et dans les mêmes conditions.

Durée de l'expérience : 35 jours (cinq semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	3	6	9	15	25	35
Azote total	145,0	121,9	123,8	126,2	126,2	125,0	125,0
Azote total restant % .	100,0	84,0	85,4	87,0	87,0	86,2	86,2
Azote titrable au formol.	63,3	62,0	59,4	65,9	60,1	64,6	63,9
Azote aminé	58,9	53,2	49,4	55,3	48,9	53,4	53,7
Azote ammoniacal	4,4	8,8	10,0	10,6	11,2	11,2	11,2
Rapport { Azote aminé. / Azote total . }	40,6	43,6	39,9	43,8	38,7	42,7	43,0
Rapport { Azote ammoniaca .... / Azote total . }	3,0	7,2	8,0	8,4	8,8	8,8	8,8

L'azote total décroit du premier au troisième jour, pour l'édification de la cellule microbienne, puis subit un relèvement et reste sensiblement égal jusqu'à la fin de l'essai. L'azote aminé paraît peu varier.

L'ammoniaque va en s'accroissant vers le taux limité, qui a déjà été signalé d'autre part. Bref, nous assistons encore à la réaction entre azote aminé et azote ammoniacal, avec vraisemblablement action du second sur le premier ; mais ici, non plus, rien ne nous autorise à supposer une action des corps microbiens morts sur la peptone constituant le milieu.

RECHERCHE DES EXO-DIASTASES

Dans les essais qui suivent, nous avons voulu nous rendre compte si, avec un filtrat de culture de *Bacillus fœcalis alcaligenes* ajouté aseptiquement à un milieu neuf, nous en obtiendrons l'hydrolyse.

IX

Une souche vigoureuse de *Bacillus alcaligenes* est ensemencée sur eau peptonée. Après 48 heures, la culture est filtrée sur bougie L 3 et le filtrat ajouté à raison de 5 % à une solution de peptone pancréatique (pH 7,5). L'asepsie du milieu est vérifiée par un prélèvement, qui est ensemencé et qui ne donne pas de culture, après trois jours à l'étuve.

Le mélange, filtrat et eau peptonée, est placé à l'étuve à 37°. Les analyses ont été faites au départ, puis de sept en sept jours.

Durée de l'expérience : 21 jours (trois semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote
pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21
Azote total	284,4	284,4	283,2	284,4
Azote total restant %	100,0	100,0	99,5	100,0
Azote titrable au formol	98,2	100,6	100,8	99,5
Azote aminé	89,4	91,8	92,0	90,7
Azote ammoniacal	8,8	8,8	8,8	8,8
Rapport { Azote aminé / Azote total	31,4	32,2	32,4	31,8
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	3,1	3,1	3,1	3,1

Surpris par la presque idendité des résultats et par l'inertie de cette expérience, nous avons entrepris la suivante, de beaucoup plus longue durée.

X

Une solution de peptone pepsique est traitée dans les mêmes conditions que ci-dessus :

Durée de l'expérience : 63 jours (neuf semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63
Azote total	330,9	329,7	»	330,8	»	330,7	»	330,8	»	331,2
Azote total restant %	100,0	99,6	»	99,9	»	99,9	»	99,9	»	100,1
Azote titrable au formol	51,7	51,7	»	49,1	»	51,7	»	51,5	»	51,7
Azote aminé	44,2	43,0	»	39,1	»	39,9	»	40,2	»	40,4
Azote ammoniacal	7,5	8,7	»	10,0	»	11,8	»	11,3	»	11,3
Rapport { Azote aminé / Azote total }	13,3	13,0	»	11,8	»	12,0	»	12,1	»	12,1
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	2,3	2,6	»	3,0	»	3,5	»	3,4	»	3,4

Ici, comme dans les expériences antérieures, avec des peptones peu dégradées, nous voyons l'azote ammoniacal s'accroître jusqu'à un taux limite. Cet accroissement paraît se faire aux dépens de l'azote aminé ; le chiffre de l'azote titrable au formol ne varie pratiquement pas : il y a donc bien un échange interne entre ses composants. Ici encore, rien ne nous engage à supposer la présence d'un ferment protéolytique dans le filtrat de culture.

En résumé, les méthodes mises en œuvre n'ont pu mettre en évidence l'existence de diastases protéolytiques faisant issue des corps microbiens vivants ou même tués par le toluène.

CHAPITRE V

ACTION DU BACILLUS FOECALIS ALCALIGENES SUR LES MILIEUX AZOTÉS LIQUIDES

Après avoir envisagé le comportement des milieux azotés liquides, en dehors de toute action microbienne et en dehors d'action microbienne vivante, nous tenterons de connaître le processus de dégradation que fait subir le *Bacillus fœcalis alcaligenes* aux milieux employés couramment pour les cultures, ces milieux étant placés dans l'ordre de leur richesse en azote aminé.

Mais ici, une précaution prémilinaire s'imposait : il fallait s'assurer qu'au cours des expériences il n'y avait pas de perte d'azote par entraînement d'ammoniaque par évaporation, ce qui eut été fort possible considérant que le liquide était alcalin et chauffé à 37°. Il n'en a cependant rien été ; nous avons fait plusieurs expériences à ce sujet et nous en résumons une ci-dessous.

Un matras renfermant 250 cm³ de liquide nutritif (peptone et levure) amené au *p*H 7,2 est stérilisé. Un prélèvement est fait ; l'azote total est dosé sur 1 cm³, à deux reprises, on trouve :

121 mg. 250 pour 100 cm³ de milieu.

et 122 mg. 500 pour 100 cm³ de milieu.

On ensemence le liquide avec le *bacillus fœcalis alcaligenes*. On porte à l'étuve pendant cinq jours ; on ramène au poids primitif avec de l'eau distillée ; on homogénéise par agitation avec des perles de verre ; on fait un prélèvement sur le liquide trouble et on dose l'azote total. On trouve :

121 mg. 250 pour 100 cm³ de liquide cultivé

121 mg. 750 pour 100 cm³ de liquide cultivé

soit en moyenne :

Azote avant culture : 121 mg. 875 pour 100 cm³

Azote après culture : 121 mg. 500 pour 100 cm³

S'il y avait eu une perte d'azote elle serait de 0 mg. 375 pour 100 cm³.

D'autre part, nous nous sommes assuré de la teneur en ammoniac libre, dans le liquide cultivé, en l'entraînant par un courant de vapeur. Nous avons trouvé en azote : 15 milligrammes, pour 100 cm³, soit 18 mg. 2 en ammoniac.

De ce qui précède nous pouvons donc affirmer qu'il n'y a pas de perte d'azote au cours des expériences que nous allons décrire.

ACTION DU *Bacillus fœcalis alcaligenes* SUR DES SOLUTIONS DE PEPTONES PEPSIQUES

XI

CULTURE DU *Bacillus alcaligenes* SUR UNE SOLUTION DE PEPTONE PEPSIQUE (marque C, *p*H. 7,5)

Durée de l'expérience : 77 jours (onze semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77
Azote total	453,7	447,5	444,0	440,0	436,2	425,0	423,2	421,1	419,4	418,7	416,3	412,5
Azote total restant %	100,0	98,6	96,9	96,9	96,1	93,6	93,2	92,8	92,4	92,2	91,7	90,9
Azote titrable au formol	43,9	51,7	64,6	80,1	104,5	96,9	102,0	107,5	113,6	116,3	131,8	134,3
Azote aminé	33,2	35,5	37,1	42,6	49,5	49,4	48,9	47,5	44,9	48,8	59,3	59,3
Azote ammoniacal	10,7	16,2	27,5	37,5	55,0	47,5	53,1	60,0	68,7	67,5	72,5	75,0
Rapport { Azote aminé / Azote total }	7,3	7,9	8,4	9,6	11,1	11,6	11,5	11,2	10,7	11,6	14,2	14,3
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	2,3	3,6	6,2	8,5	12,6	11.1	12,4	14,2	16,3	16,1	17,4	18,1

Dans cette expérience, nous constatons, que la quantité de l'azote total baisse régulièrement ; nous attribuons cette régularité à la surabondance d'azote fourni au microbe.

D'autre part, l'azote aminé suit une progression croissante de même celle de l'azote ammoniacal, dont la teneur en fin d'expérience est de 75 mg. pour 100 cm^3 (soit en ammoniaque 91 mg). Une partie de cette ammoniaque doit être combinée ; car, nous avons démontré qu'au delà de 70 mg. d'ammoniaque libre, la culture devenait impossible.

XII

CULTURE DU *Bacillus alcaligenes* SUR UNE SOLUTION DE PEPTONE PEPSIQUE (MARQUE W, *p*H. 7,5)

Durée de l'expérience 77 jours (onze semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77
Azote total	175,0	157,2	151,9	132,2	149,4	134,4	141,9	141,9	135,6	135,0	134,4	129,4
Azote total restant %	100,0	87,4	84,5	79,1	83,1	74,7	78,9	78,9	75,4	74,9	74,4	72,1
Azote titrable au formol	19,4	32,4	29,7	31,0	40,0	39,5	41,3	49,0	42,6	43,3	43,9	42,6
Azote aminé	15,6	23,6	18,4	16,0	21,2	20,7	20,0	26,5	21,3	22,7	23,9	23,8
Azote ammoniacal	3,8	8,8	11,3	15,0	18,8	18,8	21,3	22,5	21,3	20,6	20,0	18,8
Rapport { Azote aminé / Azote total	8,9	14,3	12,1	12,1	14,3	15,4	14,1	18,6	15,7	16,3	17,0	18,3
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	2,1	5,6	7,4	11,3	12,5	13,9	15,0	15,8	15,7	15,3	14,8	14,5

Ici, nous avons affaire à une peptone un peu plus dégradée que la précédente ; le rapport azote aminé à azote total étant plus élevé. Cependant, nous voyons que la consommation d'azote total est déjà plus élevée dans le même laps de temps de onze semaines (28 % contre 9 % dans la première expérience) ; d'autre part, le rapport $\frac{\text{Azote aminé}}{\text{azote total}}$ s'est élevé comme le rapport :

$\frac{\text{Azote ammoniacal}}{\text{azote total}}$, il semblerait ici que le phénomène d'hydrolyse a été plus facile.

XIII

CULTURE DE *Bacillus alcaligenes* SUR UNE SOLUTION DE PEPTONE PEPSIQUE (*p*H. 7,5)

Durée de l'expérience : 56 jours (huit semaines)

Résultas exprimés en milligrammes d'azote, pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Azote total	345,5	345,0	345,0	345,0	345,0	345,0	335,0	325,0	317,0
Azote total restant %	100,0	99,8	99,8	99,8	99,8	99,8	96,9	94,0	91,7
Azote titrable au formol	45,2	49,1	60,7	77,5	91,7	90,1	95,2	95,6	98,2
Azote aminé	35,2	29,1	30,7	35,0	39,2	32,6	31,4	35,6	38,2
Azote ammoniacal	10,0	20,0	30,0	42,5	52,5	57,5	63,8	60,0	60,0
Rapport { Azote aminé / Azote total }	10,1	8,4	8,8	10,1	11,3	9,4	9,3	10,9	12,0
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	2,8	5,7	8,6	12,3	15,2	16,6	19,0	18,4	18,9

Ici encore, la peptone est un peu plus dégradée que la précédente ; cependant, elle s'est montrée de consommation difficile jusqu'au 42e jour ; et, bien que l'azote titrable au formol se soit élevé, le rapport $\frac{\text{azote aminé}}{\text{azote total}}$ est resté sensiblement le même, presque jusqu'en fin d'expérience. Seul le taux de l'azote ammoniacal a progressé, sans cependant réussir à entraîner avec lui le relèvement de l'azote aminé. Il faudrait donc supposer, qu'ici le microbe a mené une vie très ralentie ou qu'il s'est alimenté aux dépens de l'azote aminé, mais dans de faibles proportions et surtout à partir du 42e jour.

XIV

Pour cette expérience, nous avons employé une peptone qui, bien que vendue par le fournisseur, comme peptone pancréatique, doit être par son rapport $\frac{\text{azote aminé}}{\text{azote total}}$, classée parmi les peptones pepsiques.

Nous avons utilisé une solution de faible concentration en peptone (0,5 % environ), par opposition à l'expérience XII ; car, nous avons voulu placer le microbe en présence d'une faible quantité d'aliments.

Durée de l'expérience : 84 jours (douze semaines)

Résultas exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide.

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
Azote total	48,75	38,75	33,75	35,0	34,38	31,87	30,03	»	33,13	29,38	26,25	24,77	23,13
Azote restant %	100,0	79*50	69,26	71,72	70,49	65,36	61,68	»	68,03	60,24	53,89	50,81	47,54
Azote titrable au formol	10,33	15,50	19,37	19,04	12,90	12,90	12,90	»	17,44	15,00	9,69	9,69	9,69
Azote aminé	8,46	8,00	10,62	10,54	4,77	4,65	4,15	»	6,19	4,50	0,94	2,19	3,44
Azote ammoniacal	1,87	7,50	8,75	8,50	8,13	8,25	8,75	»	11,25	10,50	8,75	7,50	6,25
Rapport { Azote aminé / Azote total	17,33	20,61	31,42	33,00	13,86	14,57	13,78	»	18,67	15,30	3,58	8,83	14,83
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	3,83	19,33	25,88	21,42	23,68	25,86	29,06	»	33,88	35,71	33,29	30,28	26,93

Dans cet essai, nous voyons que l'azote total est consommé beaucoup plus vite et plus complètement que dans les expériences précédentes ; et, fait remarquable, l'azote aminé a été consommé en fin d'essai plus rapidement qu'il n'a été formé, puisqu'il est en déficit sur le chiffre du départ. Enfin, l'azote ammoniacal a subi une augmentation beaucoup moins forte que dans les essais précédents.

En résumé, expérience d'allure beaucoup plus régulière et régularité probablement due à l'emploi d'une peptone plus dégradée que les précédentes.

XV

ACTION DU *Bacillus fœcalis alcaligenes* SUR DES SOLUTIONS DE PEPTONES PANCRÉATIQUES

Une solution de peptone pancréatique (marque M, 3 % environ, *p*H. 7,5) est ensemencée et placée à l'étuve à 37° ; les prélèvements et les analyses sont faits comme précédemment.

Durée de l'expérience : 35 jours (cinq semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35
Azote total	318,5	304,3	285,1	278,4	277,2	277,7
Azote total restant %	100,0	95,5	89,5	87,4	87,0	87,1
Azote titrable au formol	100,8	125,2	130,3	129,9	130,5	140,1
Azote aminé	87,1	84,7	76,6	66,5	52,8	55,6
Azote ammoniacal	13,7	40,5	53,7	63,4	77,7	84,5
Rapport { Azote aminé / Azote total }	27,3	26,9	24,0	20,8	16,5	17,4
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	4,3	12,7	16,8	19,9	24,3	26,4

Dès la troisième semaine, l'azote total s'établit à un point fixe et ne diminue plus ; il ne se passe plus que des réactions dont les composants de l'azote titrable au formol font les frais ; l'azote aminé étant détruit au bénéfice de l'azote ammoniacal, sauf à la dernière semaine où il se trouve relevé un peu, probablement par suite de l'action de l'ammoniaque sur les protéines.

XVI

Une solution de peptone pancréatique (marque M 3,5 % environ,(*p*H. 7,5) est ensemencée de *Bacillus alcaligenes.*

Durée de l'expérience : 77 jours (onze semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77
Azote total	391,2	387,5	382,5	377,5	370,0	367,5	365,0	364,5	361,2	363,8	356,3	350,0
Azote total restant %	100,0	99,1	97,7	96,4	94,3	93,9	93,3	93,1	92,3	92,9	91,0	89,4
Azote titrable au formol	133,0	152,4	149,1	157,5	171,8	162,8	158,0	153,1	167,9	174,6	196,3	186,0
Azote aminé	121,8	114,8	94,1	83,7	84,0	81,5	73,0	73,1	74,1	78,3	97,5	83,5
Azote ammoniacal	11,2	37,6	55,0	73,8	87,8	81,3	85,0	80,0	93,8	96,3	98,8	102,5
Rapport { Azote aminé / Azote total	31,1	29,6	24,6	22,1	22,7	22,1	20,0	20,0	20,5	21,5	27,3	23,9
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	2,8	9,7	14,4	19,5	23,7	22,1	23,5	21,9	25,9	26,4	27,7	29,2

Cette expérience, répétition de la précédente mais plus longue, nous fait voir que l'azote total et l'azote aminé disparaissent plus difficilement. Néanmoins, l'azote aminé est consommé assez régulièrement bien que fort lentement ; et, comme nous l'avons vu se relève en fin d'expérience. Mais, ce qui est remarquable, c'est la quantité d'ammoniaque, vraisemblasalifiée, qui correspond à 124 mg. 5 de NH^3 pour 100 cm^3.

XVII

ACTION DU BACILLUS *fœcalis alcaligenes sur* UNE SOLUTION DE PEPTONE HYDROLYSÉE

En vue de cette expérience, nous avons pratiqué l'hydrolyse acide d'une peptone commerciale ; puis, après avoir amené la solution au *p*H 7,5 par la soude, nous l'avons ensemencée de *Bacillus alcaligenes.*

Durée de l'expérience : 77 jours (onze semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide.

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77
Azote total	327,5	325,0	322,5	317,5	306,2	298,8	298,0	298,0	298,7	295,5	288,8	278,8
Azote total restant %	100,0	99,2	98,4	96,9	93,4	91,2	90,9	90,9	90,9	89,3	88,1	85,1
Azote titrable au formol	140,8	160,1	157,6	162,8	168,7	166,6	165,0	158,5	155,0	160,1	173,1	167,9
Azote aminé	118,9	121,4	102,6	85,3	80,0	90,3	85,0	78,5	70,0	77,6	90,6	85,4
Azote ammoniacal	21,9	38,7	55,0	77,5	88,7	76,3	80,0	80,0	85,0	82,5	82,5	82,5
Rapport { Azote aminé / Azote total	36,3	36,1	31,7	26,8	26,1	30,2	28,5	26,3	23,4	26,5	31,3	30,6
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	6,6	11,9	17,0	24,4	25,7	25,5	26,8	26,8	28,4	28,2	28,5	29,5

Dans cette expérience, le rapport $\frac{\text{azote aminé}}{\text{azote total}}$ est plus élevé que dans la précédente ; cependant, on peut comparer ces expériences ; car la marche des phénomènes est semblable dans les deux et nous suggère les mêmes remarques.

XVIII

ACTION DU *Bacillus fœcalis alcaligenes* SUR DES SOLUTIONS DE PEPTONE DE CASÉINE

Cette expérience trouve sa place à la suite de celles effectuées avec les peptones pancréatiques. Ici nous vons cultivé *le bacillus alcaligenes* sur une solution de peptone de caséine ; cette peptone est le résulta de l'hydrolyse sulfurique de la caséïne ; elle présente un grand intérêt par suite de son état avancé de dégradation.

Durée de l'expérience : 28 jours (quatre semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote
pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28
Azote total	200,0	198,1	198,1	198,1	193,4
Azote total restant %	100,0	99,0	99,0	99,0	96,7
Azote titrable au formol	155,0	139,5	146,7	129,2	140,1
Azote aminé	137,5	113,2	112,9	94,2	102,0
Azote ammoniacal	17,5	26,3	33,8	35,0	38,1
Rapport { Azote aminé / Azote total }	68,7	56,1	56,9	47,5	52,7
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	8,7	13,2	17,0	17,6	19,7

N. B. — L'expérience a été interrompue par suite d'accident au matras.

Sur ce milieu, l'acclimatation du microbe paraît avoir été pénible ; pendant les trois premières semaines, la consommation de l'azote total a été insignifiante ; l'azote aminé a été peu attaqué. Enfin, il ne s'est pas formé de voile en 24 heures, sur le milieu.

XIX

Nous avons recommencé cette expérience dans les mêmes conditions :

Durée de l'expérience : 56 jours (huit semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Azote total	225,6	214,4	214,3	211,9	184,5	177,5	168,1	153,8	145,6
Azote total restant %	100,0	95,2	95,2	93,4	81,7	78,6	74,9	68,1	64,5
Azote titrable au formol	157,6	155,7	155,0	152,4	158,2	150,5	138,2	134,3	117,5
Azote aminé	135,1	125,1	119,4	114,2	104,7	81,7	65,7	60,5	50,0
Azote ammoniacal	22,5	30,6	35,6	38,2	53,5	68,8	72,5	73,8	67,5
Rapport { Azote aminé / Azote total	59,8	58,3	55,7	53,8	56,6	46,0	39,0	39,3	34,3
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	9,9	14,2	16,6	18,0	28,9	38,7	43,1	47,9	46,3

Ici non plus, il ne s'est pas formé de voile au départ ; mais on en constate la présence vers le 26e jour ; il est épais, bien formé, mais très fragile. La consommation plus intense de l'azote total et de l'azote aminé, l'élévation du taux de l'azote ammoniacal indiquent que le germe s'est acclimaté et que l'attaque a pris une allure normale. De plus, constatons qu'avant la 4e semaine le microbe était seulement en état de vie ralentie. Puisqu'il n'y a pas eu de relèvement sur l'azote total, il n'y a pas eu hydrolyse de cadavres microbiens.

XX

ACTION DU *Baccillus fœcalis alcaligenes* SUR LES AUTOLYSATS DE LEVURE.

Culture du *Bacillus fœcalis alcaligenes* sur un autolysat de levure.

La levure est mise à autolyser suivant la technique que nous avons indiquée dans un précédent travail (21) ; et, le milieu limpide qu'on en tire, est amené au *p*H 7,5. L'expérience est conduite comme précédemment.

Durée de l'expérience : 56 jours (huit semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56
Azote total	204,0	184,0	185,0	182,5	182,5	182,5	181,4	171,1	160,0
Azote total restant %	100,0	90,2	90,2	89,4	89,4	89,4	88,9	83,8	78,4
Azote titrable au formol	90,4	69,7	76,2	83,3	72,3	62,0	67,0	56,8	62,0
Azote aminé	84,2	37,2	28,7	30,8	25,8	12,0	17,0	24,3	29,5
Azote ammoniacal	6,2	32,5	47,5	52,5	46,5	50,0	50,0	32,5	32,5
Rapport { Azote aminé / Azote total }	41,2	20,2	15,5	16,8	14,1	6,5	9,3	14,1	17,7
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	3,0	17,6	25,6	28,7	25,4	27,3	27,5	18,9	20,3

Dans ce milieu, qui par sa teneur élevée en azote aminé se rapproche d'une peptone pancréatique, le germe paraît effectuer une dégradation régulière. Après la consommation brutale de la première semaine, l'azote total décroît lentement ; et, l'on ne remarque pas le relèvement indiquant la mort des germes et leur autolyse. L'azote aminé, lui aussi, est l'objet d'une forte consommation pendant la première semaine (44 % de sa totalité) ; puis, il subit une consommation régulière ; et, il est certain qu'il irait en décroissant nettement, si l'ammoniaque, dont la quantité est considérable à certains moments, ne dégradait pas le complexe protéique, pour en reformer d'autre.

XXI

Culture du *Bacilus fœecalis alcaligenes* sur un autolysat de levure

L'expérience est identique à la précédente, quant à sa marche ; cependant l'autolyse de la levure a été un peu plus prolongée, cinq jours au lieu de deux, et la concentration en azote beaucoup plus faible.

Durée de l'expérience : 63 jours (neuf semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63
Azote total	71,3	51,3	49,7	48,1	43,8	42,5	41,2	40,0	41,2	40,6
Azote total restant %	100,0	71,9	69,7	67,4	61,4	59,6	57,7	56,1	57,7	56,9
Azote titrable au formol	41,4	24,9	25,5	27,1	22,6	21,9	21,0	19,4	20,4	21,3
Azote aminé	37,1	7,4	8,6	10,9	8,8	9,0	8,9	7,5	10,0	12,5
Azote ammoniacal	4,3	17,5	16,9	16,2	13,8	12,9	12,1	11,9	10,4	8,8
Rapport { Azote aminé / Azote total }	52,0	14,4	17,3	22,6	20,0	21,1	21,6	18,7	24,2	30,0
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total }	6,2	34,1	34,0	33,6	31,4	30,3	29,3	29,7	25,2	21,6

Nous voyons, les phénomènes se succéder comme dans l'expérience précédente ; toutefois, l'azote aminé est plus long à se relever ; et, probablement, par suite de la pauvreté du milieu, le germe semble obligé de consommer de l'azote ammoniacal. Nous aurons rarement à faire pareille constatation.

XXII

Action du *Bacillus fœecalis alcaligenes* sur une décoction de viande

Pour cet essai, nous avons pratiqué l'ensemencement sur une décoction de viande de bœuf, amenée au *p*H. 7,1 ; et nous avons continué l'expérience tant qu'il y a eu du liquide dans le matras.

Durée de l'expérience : 84 jours (douze semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide.

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
Azote total	201,9	168,8	165,6	164,4	163,1	160,6	153,8	148,0	144,0	142,5	159,4	148,1	145,0
Azote total restant %	100,0	83,6	82,0	81,4	80,7	79,5	76,1	73,3	71,3	70,5	78,9	73,3	71,8
Azote titrable au formol	38,1	45,9	54,9	53,6	52,3	59,9	43,9	43,7	43,4	43,3	49,1	47,8	36,2
Azote aminé	30,6	34,6	34,9	34,2	35,4	44,3	28,9	29,6	30,3	32,7	39,1	39,0	28,7
Azote ammoniacal	7,5	11,3	20,0	19,4	16,9	15,6	15,0	14,1	13,1	10,6	10,0	8,8	7,5
Rapport { Azote aminé / Azote total	15,1	20,4	21,1	20,8	21,7	27,5	18,7	20,0	21,0	22,9	24,5	26,3	19,8
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	3,7	6,6	12,0	11,8	10,3	9,5	9,8	9,5	9,1	7,4	6,3	5,9	5,9

Dans cet essai, où nous avions maintenu à dessein, au départ, la réaction voisine de l'acidité, le microbe s'est bien développé dès le début ; et, la quantité d'ammoniaque optimum a été atteinte dès la deuxième semaine. L'azote total a décru régulièrement, sauf à la 10e semaine où il fait une pointe, signe d'une mort partielle de la culture. L'azote aminé s'est accru comme dans les milieux pepsiques dont on peut rapprocher ce milieu. Enfin, le repiquage de la culture, en fin d'expérience, nous a donné des germes bien vivants.

XXIII

Action du *Bacillus fœcalis alcaligenes* sur une décoction végétale

Il nous a semblé qu'il serait intéressant de suivre la culture du *Bacillus alcaligenes* sur une décoction végétale ; et, le développement de l'expérience a justifié nos présomptions. Des haricots blancs sont maintenus, pendant quatre heures, à une douce ébullition, de façon à ne pas éclater les graines. Le liquide est neutralisé, passé à l'autoclave à 120°, filtré sur bougie, amené au *p*H 7,5 et ensemencé.

Durée de l'expérience : 70 jours (dix semaines)

Résultats exprimés en milligrammes d'azote pour 100 cm³ de liquide.

Jours	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70
Azote total	97,5	83,1	82,8	82,5	81,2	80,6	80,3	80,0	80,0	76,8	78,1
Azote total restant %	100,0	85,2	84,9	84,6	83,3	82,6	82,3	82,0	82,0	78,8	80,1
Azote titrable au formol	33,6	32,3	31,6	31,0	34,2	33,6	33,6	28,4	23,3	25,8	27,1
Azote aminé	27,4	16,1	16,0	16,0	21,1	23,6	24,8	21,5	17,3	20,8	23,7
Azote ammoniacal	6,2	16,2	15,6	15,0	13,1	10,0	8,8	6,9	6,0	5,0	3,4
Azote amidé	4,2	2,5	0	0	0	»	»	»	»	»	»
Rapport { Azote aminé / Azote total	28,1	19,3	19,3	19,3	25,9	29,2	30,8	26,8	21,6	27,0	27,7
Rapport { Azote ammoniacal / Azote total	6,3	19,4	18,8	18,1	16,1	12,4	10,9	8,6	7,5	6,6	4,3

En quatre jours, il se développe une culture très abondante ; le voile commence par se former en ilôts qui se réunissent ensuite.

La culture du *Bacillus fœecalis alcaligenes* dégage, en général, une odeur un peu putride ; mais, sur ce milieu, elle est franchement infecte. Nous avions, d'ailleurs, déjà constaté ce fait, en cultivant du *Bacterium coli commune* sur ce même milieu.

En dix semaines, 20 % de l'azote total est consommé ; la consommation suit une allure régulière jusqu'en fin d'expérience. L'azote aminé, après le fléchissement des premières semaines, remonte sensiblement et paraît adopter un niveau à peu près égal après la quatrième semaine. L'azote ammoniacal, après une élévation correspondant précisément au fléchissement de l'azote aminé, décroît pour finir en-dessous de son point de départ, fait que nous n'avions pas encore vu jusqu'ici.

Enfin, nous avons constaté et dosé la présence d'azote amidé (4 % environ), qui a été consommé avec une grande facilité.

Ce milieu, paraît être facilement consommé par le germe, qui s'y développe abondamment. Il peut être rapproché des solutions de peptones pancréatiques et des eaux de levure.

TROISIÈME PARTIE

CONSIDÉRATIONS SUR LES RÉSULTATS OBTENUS

Dans un premier groupe d'expériences, nous avons recherché si un milieu liquide azoté s'hydrolysait en dehors d'une action microbienne. Pour une peptone peu dégradée, nous avons constaté qu'il y avait hydrolyse ; tandis qu'avec une peptone plus dégradée, il n'y avait pas de changement.

Une peptone de caséine, elle aussi, reste stable. De même, les milieux obtenus avec les autolysats de levure ne subissent pas de changement ; ils se rapprochent en cela des peptones pancréatiques.

Dans un second groupe d'expériences, nous avons recherché quelle était l'action de l'ammoniaque sur les solutions de peptone. On sait déjà que les acides et les alcalis ont une action hydrolysante sur les matières protéiques ; mais ici, nous nous sommes placés dans les conditions de la pratique bactériologique ; le fait était d'autant plus intéressant que le *Bacillus alcaligenes* est un grand producteur d'ammoniaque.

Pour ces essais, nous avons employé une peptone pepsique comme étant susceptible d'une plus forte dégradation ; l'essai VI a été mené pendant dix semaines avec un liquide faiblement ammoniacal. La teneur en azote ammoniacal s'est accrue ; et, cet accroissement paraît s'être fait, ici, aux dépens de l'azote aminé qui, après s'être élevé, s'abaisse au-dessous de son point de départ.

Nous constatons ici un phénomène inverse de celui que nous verrons dans les cultures, où le taux de l'azote aminé paraît s'élever sous l'action de l'ammoniaque.

Au chapitre quatrième, nous avons abordé la question à un point de vue plus biologique; nous avons recherché si les transofrmations des matières azotées dans les milieux de culture étaient dues à une secrétion du microbe ou à une partie constituante du corps microbien.

Nous devons dire, tout de suite, que nos efforts ont été vains, ce qui témoigne bien de la grande différence qui existe entre les essais *in vitro* et les essais *in vivo*.

Dans l'essai VII, nous avons tué, par le toluène, une culture à son troisième jour, c'est-à-dire en pleine activité. A partir de ce moment, l'azote aminé subit un léger relèvement, dû vraisemblablement à l'action de l'ammoniaque qui, lui, reste sensiblement égal à lui-même.

Pour l'essai suivant, par opposition au précédent, nous avons employé une peptone plus dé-

gradée. Ici, encore, nous avons constaté un relèvement de l'azote aminé ; et, aussi un relèvement de l'ammoniaque qui, cependant, atteint un taux limite avant le taux limite de l'azote aminé, et, nous pouvons supposer que c'est à l'action de l'ammoniaque qu'est due l'amination du milieu, par dégradation de la molécule protéique et, peut être aussi, par autolyse des corps microbiens.

Devant le peu de succès que nous obtenions avec les corps microbiens morts, nous avons pensé que les cultures filtrées nous donneraient une indication.

L'essai IX nous fournit des résultats identiques pendant trois semaines, sauf les écarts dus aux erreurs d'expérience.

L'essai X n'est pas concluant ; car, si l'azote ammoniacal s'est élevé, c'est au détriment de l'azote aminé ; et, rien ne permet de supposer que le filtrat de culture ait apporté un élément générateur de cette transformation.

Cependant, Arnaud et Charrin (2) avaient constaté, avec le B. pyocyanique, un fait qui pouvait nous encourager dans cette voie : les corps microbiens lavés et tués par le chloroforme dédoublent l'asparagine, alors que le filtrant de culture est sans action sur ce corps.

Enfin, dans le chapitre V, nous avons recherché l'action du *Bacillus fœcalis alcaligenes*, sur les milieux de culture azotés liquides.

Dans une premirèe série d'expériences, nous avons étudié son action sur les peptones pepsiques.

Dans l'essai XI, l'un des plus longs de ce travail, nous suivons la consommation de l'azote total, qui se fait d'une façon très régulière ; et, la pureté de la courbe n'est pas altérée par ces résurgences, que nous avons attribuées à l'autolyse des corps microbiens morts. Il faut donc supposer que pendant cette longue période, il n'y a pas eu de morts dans la culture, ou tout au moins pas d'autolyse des cadavres. Les teneurs en azote aminé et en a azote ammoniacal s'élèvent, il y a cependant eu un moment d'arrêt dans la formation d'azote aminé, de la 4e à la 9e semaine.

L'essai XII, réplique du précédent, nous fait assister aux mêmes phénomènes ; l'attaque de l'azote total est seulement plus poussée ; et, la production d'azote ammoniacal moins abondante.

Dans l'essai XIII, bien qu'effectué avec une peptone plus dégradée, le germe paraît végéter aux dépens de l'azote aminé. L'attaque de l'azote total est faible ; seule la production d'ammoniaque est active ; il faudrait supposer que cette peptone ne convient pas très bien au germe.

Pour l'essai XIV, nous avons employé une peptone qui se situe entre les peptones pepsiques et les peptones pancréatiques. Nous attribuons la bonne marche de l'exéprience à ce que le microbe a probablement trouvé l'azote aminé sous une forme qui lui convenait particulièrement ;et, qu'il n'a pas eu à cliver la molécule protéïque pour trier dans les frarments ceux qui lui convenaient.

Dans une seconde série d'expériences, nous avons

recherché l'action du *Bacillus alcaligenes* sur les peptones pancréatiques.

Avec les essais XV et XVI, nous voyons que l'azote total disparaît peu, et que, contrairement à ce qui se passe avec les peptones pepsiques, l'azote aminé décroît ; et, nous trouvons ici une confirmation de l'hypothèse que nous avons formulée dans l'expérience précédente : le microbe s'accomode plus particulièrement d un acide aminé déterminé.

L'essai suivant ne nous apprend pas grand chose de plus que les précédents ; mais, toutefois, les confirme. L'hydrolyse de la peptone a d'ailleurs été peu poussée.

Enfin, notons que dans ces expériences, avec des peptones de diverses provenances, l'azote ammoniacal va toujours en augmentant. Courmont, Morel et Bay (4) avaient déjà constaté ce fait, dans leurs recherches sur les cultures de B. tuberculeux humain.

D'autre part, Arnaud et Charrin (2) ont constaté, dans des cultures de B. pyocyanique, que l'azote ammoniacal atteignait 85 mg. pour 100 cm³ de culture.

Pour les essais XVIII et XIX, pratiqués avec une source d'azote un peu particulière, remarquable par sa haute teneur en azote aminé, un facteur intervient, qui peut fausser les résultats. En effet, la solution de peptone est fortement acide et exige une forte quantité de soude, pour être neutralisée : d'où la présence d'une notable proportion de sulfate dans le milieu ; néanmoins, après quelques semaines, le

germe paraît s'acclimater, et poursuit son travail comme avec une peptone pancréatique.

Les autolysats de levure, par leur prix de revient modique, leur facile préparation et leur forte teneur en azote aminé, sont des milieux de culture intéressants.

L'étude de ces milieux fait l'objet des essais XX et XXI ; nous y constatons que l'azote total y décroît de façon régulière, de même que l'azote aminé qui se relève en fin d'essai, sous l'action de l'ammoniaque. Toutefois, jusqu'au 35º jour, il subit une consommation indicative de sa convenance au microbe.

D'une manière générale, nous avons remarqué que ce milieu est favorable à la culture de nombreux germes.

Il était indiqué d'étudier aussi l'action du *Bacillus alcaligenes* sur un bouillon de viande fraîche ; nous avons réalisé cette étude à l'essai XXII. Bien que l'azote total ait subi une consommation, l'azote aminé et l'azote ammoniacal suivent des courbes parallèles et ondulantes, qui nous font supposer qu'ici le microbe ne trouve pas des éléments favorables à sa consommation et qu'il ne mène qu'une vie ralentie.

Enfin à l'essai XXIII, nous avons suivi le développement du microbe sur une décoction végétale ; la culture y est très régulière : 20 % de l'azote total sont consommés ; l'azote aminé, après avoir subi un fléchissement, remonte et s'établit à un niveau oscillant

autour de 20 mg. pour 100 cm³. En réalité, le rapport azote aminé à azote total est le même à la fin de l'essai qu'au commencement. Ce qui est remarquable, c'est la décroissance de l'azote ammoniacal, fait sans précédent jusqu'ici et qui laisse supposer que le *Bacillus alcaligenes*, ce gros producteur d'ammoniaque, en consomme aussi à l'occasion.

Enfin, nous pouvons superposer les essais I et XII, qui ont été effectués avec la même peptone et en même temps ; le I présentant l'auto-dégradation et le XII la dégradation due au microbe plus l'auto-dégradation, ce qui nous permet de calculer la dégradation d'origine réellement bactérienne.

En 70 jours les deux essais ont marché de la façon suivante :

Azote total : en I, pas de variation ;

en XII, déficit de 26 %, réellement utilisé pour l'édification des corps microbiens.

Azote aminé : en I, accroissement de 2 %, par rapport à l'azote total ;

en XII, 8 % (6 % sont donc dus uniquement à l'action du microbe).

Azote ammoniacal : en I, accroissement de 0,7 %, par rapport à l'azote total ;

en XII, 12,7 % (soit 12 % redevables au travail du microbe).

Cette superposition d'expériences nous apprend que dans les résultats acquis, il faut considérer comme travail réel du germe, le travail apparent, défalcation faite du travail dû aux réactifs mis en présence. Les

deux constituants de ce travail total comportent de très nombreuses variables : pour le premier, température de la réaction, dilution, état du corps azote mis en solution et *p*H, pour le second, outre les conditions précédentes, nature du germe et convenance du corps azoté mis à sa disposition.

De même, nous pouvons superposer les essais V et XXI, qui ont été effectués avec la même eau de levure, en même temps et dans les mêmes conditions.

Mais ici, le milieu primitif n'a pas subi l'autodégradation (nous savons par ailleurs que l'eau de levure est un milieu stable) et tout le travail peut être rapporté à l'action du germe.

En terminant ces considérations, disons combien il est regrettable qu'en technique bactériologique la préparation des milieux nutritifs soit encore livrée la plupart du temps à l'empirisme, et que des laboratoires emploient des milieux, sans connaître les proportions de leurs constituants, et aillent parfois ainsi à des échecs cependant bien explicables.

CONCLUSIONS

1° En dehors de toute action microbienne, une solution de peptone pepsique, neutre, placée à l'étuve à 37°, subit le phénomène d'hydrolyse ; la réaction atteint un taux limite qu'elle ne franchit pas.

2° Dans les mêmes conditions une solution de peptone pancréatique reste stable et ne s'hydrolyse pas. Il en est de même pour un peptone de caséine.

3° Dans les mêmes conditions une eau préparée avec un autolysant de levure reste également stable.

4° Dans une solution de peptone pepsique, additionnée d'ammoniaque, il se produit en enrichssement en ammoniaque et cela aux dépens de l'azote aminé La réaction atteint un taux limite.

5° Les corps microbiens morts, en contact avec le milieu qui a servi à leur culture, ne poursuivent pas l'hydrolyse de ce milieu. Il n'existerait donc pas d'endo-diastase.

6° Un filtrat de culture introduit dans un milieu neuf n'en produit pas l'hydrolyse. Il n'existerait donc pas d'exo-diastase. Ou plutôt nous n'avons pas réussi à mettre en lumière l'action d'une diastase.

7° La culture du *Bacillus fœcalis alcaligenes*, dans une solution de peptone pepsique, détermine l'abais-

sement du taux de l'azote total, une élévation du taux de l'azote aminé et de l'azote ammoniacal.

8° La culture de ce même bacille, dans une solution de peptone pancréatique, détermine, outre l'abaissement du taux de l'azote total l'abaissement du taux de l'azote aminé et l'élévation de celui de l'azote ammoniacal.

9° Dans un milieu, préparé avec une peptone de caséine, le germe, après une période d'acclimatation, se comporte comme avec une peptone pancréatique, mais avec une moindre production d'ammoniaque.

10° L'eau préparée avec l'autolysat de levure est un milieu qui convient bien à la culture du *Bacillus alcaligenes*. La brutale consommation de l'azote aminé, pendant la première semaine, en est une indication de même que la formation d'ammoniaque dans le milieu.

11° Les bouillons de viande paraissent être peu favorables à la culture du *Bacillus alcaligenes*.

12° Sur décoction végétale, ce germe paraît consommer peu d'azote aminé ; et, fait sans précédent dans ce travail, il y a disparition d'azote ammoniacal.

13° Le microbe ne consomme pas indistinctement toutes les formes d'azote aminé ; mais seulement certaines qu'il choisit.

14° Il y a toujours une période de grande activité, au début des cultures, caractérisée par une brusque chute de l'azote total, de l'azote aminé et une élévation de l'azote ammoniacal.

15° Il est nécessaire de superposer dans une même expérience un essai à blanc et une culture, afin de connaître exactement les changements produits par le microbe.

BIBLIOGRAPHIE

1. Altschuler (E). — Université de Strasbourg. Ueber die beziehungen des Bac, Fœcalis alcaligenes zu den typhusbazillen.
2. Arnaud (A) et Charrin (A). — Recherches chimiques sur les secrétions microbiennes. Transformation et élimination de la matière organique azotée par le bacille pyocyanique dans un milieu de culture déterminé. *C. R. Ac. Sc.*, 1891-112, p. 755.
3. Berghaus. — Die verwandtschaflichen bezihungen zwischen dem bacillus fœcalis alcaligenes und dem typhusbacillus, *Hyg. Rund.*, XV, 1905, p. 761.

3*b*. Bergmann (P). — Ein neues varfahren sus Ausschaltung des Bac. proteus bei diagnostischen bacteriologischen Arbeiten *Centralb. f. Bakt.*, *I*. CXV, 1929, p. 176.

4. Courmont (P) Morel (A) et Bay (I). — Sur la réaction et la teneur en azote ammoniacal et en azote aminé des cultures en bouillon pepto-glycérine du B. tuberculeux humain. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, 93, p. 1310.
5. Doebert (A). — (Instit. hygién. Berlin). Die verwandtschaflichen bezihungen Zwischen dem bacillus fœcalis alk-ligenes und dem typhusbacillus.
6. Fischer (E). — Zur biologie des bacillus fœcalis alcaligenes *Centralb. für Backt.* XXV, 1899, p. 693.
7. Gaehtgens (W). — Ein beitrag sur biologie des bacillus fœcalis alcaligenes *archiv. für Hygi.*, LXXII, p. 152.
8. Hermann V. Hovell. — Ueber eine neue gruppe typhusahulicher farbstoffbildender Bakterien. *Centralb. für Backt. I origin.*, LXXVII, 1916, p. 449.

9. Hirst (L.F.). — Observation on the pathogenicity and specific characters of the bacillus fœcalis alcaligenes. *Jounr. Roy. Army, Med. corps*, XXX, 1917, pp. 476-487.

10. Javillier (M) et Guérithault (B). — Sur la distinction des peptones médicinales d'origine pepsique et d'origine pancréatique. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1910, 17, p. 63.

11. Klimenko (W.N.). — (Inst. med. expt. Saint-Petersbourg) Die gruppe des Bac fœcalis alcaligenes. *Centralb. für Backt I origin* XLIII, 1907, pp. 755-774.

12. Klimenko (W.N.). — (Inst. med. expt. Saint-Peterbsbourg) Bacterium mariense (nov. spec.) ein nuer alkalibildner. *Centralb. für Baskt. I origin*, XLV, 1907, pp. 481-487.

13. Lafforgue — Remarques à propos d'un B. Alcaligenes dans une affection typhique *C. R. Soc. de biologie*, juillet 1908.

13*b*. Leclère. — *C. R. Soc. Biologie*, LXXX, 1917, p. 959.

14. Lesbre (Ph) et Verdeau (A). — Quelques caractères spécifiques du bacillus Foecalis alcaligenes. *C. R. Soc. Biologie*, XCII, 1925, p. 167.

15. Magalhaes (A. de). — Bacillus foecalis alcaligenes isolé du sang d'un individu. *C. R. Soc. Biologie*, LXXXIV, 1921, p. 591.

16. Meillere (G) et de Saint-Rat. — Dosage de l'azote total, dispositions pour recevoir l'ammoniaque, application au dosage des albumines du lait. *Journ. Pharm. et Chim*, 1922, 25, p. 100.

17. Mestrezat (W). — Notes de laboratoire sur l'emploi de quelques indicateurs colorés. L'alizarine sulfonate de soude sensibilisée. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1920, 21 p. 185.

18. Mestrezat (W) et Janet (Mlle M. P). — Présence dans l'urine d'un reste azoté que ne dose pas la méthode de Kjeldahl. Etude comparée des résultats fournis dans quelques cas par la technique de Kjeldahl-Foerster et la méthode de Dumas. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1921, 3, p. 88.

19. Mestrezat (W) et Janet (Mlle M. P.). — L'azote titrable par la méthode de Kjeldahl. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1921, 3, p. 105.

20. Mestrezat (W). — L'azote urinaire non titrable par la méthode de Kjeldahl. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, 8, p. 341.

21. Molliex (P). — Précis d'analyse bactériologique des eaux potables. 1 vol., Paris, Lefrançois, 1925.
22. Nicolle et Morax. — Technique de la coloration des cils. *Annales de l'Institut Pasteur*, VII, 1893, p. 554.
23. Petruschky. — Bacillus forcalis alcaligenes. *Centralb. für Bakt.* XIX, 1896, p. 187.
24. Rochaix (A) et Marotte. — Le bacillus foecalis alcaligenes agent pathogène. *C. R. Soc. Biologie*, LXXIX, 1916, p. 316.
24*b*. Ronchèse (A. D.). — Méthodes de dosages de quelques composés azotés. *Thèse de Pharmacie.* Paris, 1908.
24*c*. Ronchèse. — (A. D.) Guide pratique pour l'analyse des urines. 1 vol. Paris, Baillière, 1921.
25. Shearman (G. H.). — Bacillaemia due to infection with Bacillus foecalis Alcaligenes. *Journ. Roy. army, Med. corps*, XXVIII, 1917, p. 104.
25*b*. Sorensen. — *Enzymstudien. Bioch. Zeitschr.* 7. p. 45
26. Stanischewesky (M. B.) Egger (A. N.) et Mikolenko (W. F.) Bacillus foecalis alcaligenes als parainfection zur zeit des Epidémie des abdominal typhus in Dujepropetrowsk in den jahren. 1927-1928. *Centralb. f. Bakt. I*, CXIII, 1929, p. 194.
27. Straub (H) et Krauss (W). — (Clinic. médic. univers. Munich). Bacillus foecalis alcaligenes als Krawkheitsrreges.
28. Sloboziano (H) et Nasta (M) Péritonite fœtale à B. fœcalis alcaligenes. *C. R. Soc. Biologie*, CVII, 1931, p. 851.
29. Weiss (E). — Alcaligenes organism from blood of three patients with gangrenous appendicitis. *Journ. inf. Dis.*, XLIV, mai 1929, p. 394.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 1

PREMIÈRE PARTIE

Chapitre I. — Historique..... 5
Chapitre II. — Morphologie et Aspect des cultures..... 9
Chapitre III. — Propriétés biologiques 11
Chapitre IV. — Recherche et diagnostic 13

DEUXIÈME PARTIE

La nutrition azotée du *Bacillus fœcalis alcaligenes.*

Chapitre I. — Les méthodes de dosages..... 18
Chapitre II. — Etude de la dégradation d'un liquide azoté maintenu stérile 25
I. — Solution de peptone pepsique 25
II. — Solution de peptone pancréatique 28
III. — Solution de peptone de caséine..... 29
IV-V. — Eaux de levure 31

Chapitre III. — Action de l'ammoniaque sur un liquide azoté maintenu stérile 34
VI. — Solution de peptone pepsique additionnée d'ammoniaque 34
Chapitre IV. — Recherche des diastases microbiennes..... 37
VII. — Recherche des endo-diastases dans une culture sur eau de levure..... 37

VIII. — Recherche des endo-diastases dans une culture sur une solution de peptone pancréatique..... 39
IX. — Recherche des exo-diastases dans le filtrat de culture agissant sur une solution de peptone pancréatique..... 40
X. — Recherche des exo-diastases dans le filtrat de culture agissant sur une solution de peptone pepsique. 41
Chapitre V. — Action du *bacillus fœcalis alcaligenes* sur les milieux azotés liquides 44
XI-XII-XIII-XIV. — Action sur des solutions de peptones pepsiques à divers taux de dégradation..... 46
XV-XVI. — Action sur des solutions de peptones pancréatiques à divers taux de dégradation..... 53
XVII. — Action sur une solution de peptone ayant subi l'hydrolyse acide..... 56
XVIII-XIX. — Action sur les solutions de peptone de caséine 58
XX-XXI. — Action sur des eaux de levure..... 61
XXII. — Action sur une décoction de viande de bœuf.. 65
XXIII. — Action sur une décoction végétale 67

TROISIÈME PARTIE

Considérations sur les résultats obtenus dans la deuxième partie 71
Conclusions 79
Indications bibliographiques 83

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

FORMATION ET PEPTISATION DES GELS COLLOÏDAUX

VU ET APPROUVÉ :
Paris, le 21 Avril 1932.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY.

Saint-Amand (Cher). — Imprimerie R. Bussière. — 17-5-1932